Eurasian Journal
of Veterinary Sciences

www.eurasianjvetsci.org

RESEARCH ARTICLE

Erzurum'da tüketime sunulan tavuk etlerinde Listeria spp.'nin araştırılması

Emre Kaya[1], Mustafa Atasever[2*]

[1] Dağ Komando Okulu Eğitim Merkezi Komutanlığı, Gıda Kontrol Müfreze Komutanlığı, Isparta, Türkiye
[2] Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

Geliş:05.11.2019, Kabul: 06.01.2020
*atasever@atauni.edu.tr

Investigation of Listeria spp in chicken meat consumed in Erzurum

Eurasian J Vet Sci, 2020, 36, 1, 48-57
DOI: 10.15312/EurasianJVetSci.2020.259

Öz

Amaç: Bu çalışma, Erzurum'da tüketime sunulan tavuk etlerinde Listeria spp'in varlığını ve yaygınlığını belirlemek amacıyla yapıldı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada Erzurum'da tüketime sunulan 100 adet tavuk but eti örneği analize alınmıştır. Listeria spp. izolasyon ve identifikasyonunda TS EN ISO 2017 metodu ve Microbact 12 L Listeria identifikasyon test kiti kullanıldı.

Bulgular: Yapılan izolasyon çalışmalarında tavuk eti örneklerinde 64 (%64) adet Listeria spp. izole edildi. İdentifiye edilen Listeria'ların 16 (%25)'sının *L. monocytogenes*, 26 (%40.62)'sının *L. innocua*, 12 (%18.75)'sinin *L. grayi*, 5 (%7.81)'inin *L. murrayi* ve 5 (%7.81)'inin *L. welshimeri* olduğu tespit edildi. Microbact 12 *L Listeria* identifikasyon test kiti sonucunda 25 adet Listeria türü saptandı. Bu Listeria türlerinin 7 (%28)'sinin *L. monocytogenes,* 10 (%40)'unun *L. innocua,* 6 (%24)'sının *L. grayi*, 1 (%4)'inin *L. murrayi* ve 1 (%4)'inin *L. welshimeri* olduğu belirlendi.

Öneri: Elde edilen bulgular neticesinde tavuk etlerinin Listeria spp. ile yüksek oranda kontamine olduğu görülmüştür. Halk sağlığının korunması amacıyla tavuk etlerinin uygun hijyenik ve teknolojik koşullarda üretilmesi gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Erzurum, Listeria spp., tavuk eti.

Abstract

Aim: This study was conducted to determine the presence and prevalence of Listeria spp. in chicken meat in Erzurum province.

Materials and Methods: In this study, 100 chicken thigh meat samples which were consumed in Erzurum were analyzed. In the isolation and identification of Listeria spp. species were used TS EN ISO 2017 method and Microbact 12 L Listeria Identification test Kit.

Results: 64 (64%) Listeria spp were isolated in 64 (64%) out of 100 chicken meat samples, identification of those indicated 16 (25 %) isolates as *L. monocytogenes,* 26 (40.62 %) as *L. innocua,* 12 (18.75 %) *L. grayi*, 5 (7.81 %) *L. murrayi* and 5 (7.81 %) *L. welshimeri*. In the samples, 25 Listeria species were detected via Microbact 12 L Listeria identification test kit. Of these Listeria species, 7 (28%) were *L. monocytogenes*; *L. innocua* of 10 (40%); 6 of them (24%) were *L. grayi*; 1 (4%) was *L. murrayi* and 1 (4%) was *L. welshimeri.*

Conclusion: The results of this study suggest that the prevalence of Listeria spp. in chicken meat is relatively high in Erzurum. Chicken meat should be produced under appropriate, hygienic and technological conditions for the prevention of public health.

Keywords: Chicken meat, Erzurum, Listeria spp.

Giriş

Hayvansal gıda üretimi; Dünya nüfusunun hızlı artışına paralel olarak, protein ihtiyacının karşılanması maksadıyla artış göstermektedir. Buna bağlı olarak üretimden tüketime kadar olan tüm safhalarda sağlıklı hayvansal gıdaya ulaşmak için üretim endüstrisinde hijyen kavramı ön plana çıkmaktadır.

Tavuk eti, hayvansal protein ihtiyacının karşılanabilmesi maksadıyla hem üreticiler hem de tüketiciler tarafından en çok rağbet gören hayvansal üründür. Ayrıca üretim alan ihtiyacının az olması, istenilen ağırlığa kısa sürede ulaşabilmesi ve et veriminin diğer hayvansal üretimlere göre daha fazla olması sebebiyle dünya protein ihtiyacının karşılanmasında giderek önem kazanmaktadır. Tavuk etine karşı sürekli artan talebi karşılamak maksadıyla kapalı kümes sistemlerinde üreticilik ön plana çıkmaktadır. Kapalı kümes alanlarında kapasitelerinin çok üzerinde üretimin yapılması ve uygun olmayan hijyen koşullarındaki kesimhanelerde kesimin yapılması; kanatlı etlerine Listeria etkeninin bulaşma riskini artırmaktadır.

Listeriozis insan ve hayvan sağlığı açısından önemli bir zoonoz hastalık olarak kabul edilmektedir. Nitekim, 20 farklı ülkeden rapor edilen (Farber ve Peterkin 1991) toplam 782 literiozis vakasının %43'ünün maternal ve neonatal, %29'unun septisemik, %24'ünün merkezi sinir sistemi ve %4'ünün ise atipik infeksiyonlara sebep olduğu bildirilmiştir. Yüksek risk grubunda hamileler, kanser hastaları ve bağışıklığı baskılanmış kişiler vardır. Listeriozisli etleri tüketenlerde intoksikasyonlara, sporadik ölümlere, gebelerde abortuslara, çocuklarda menengit olgularına ve immün sistemi baskılanmış insanlarda ölümlere rastlanabilmektedir. *Listeria monocytogenes* ve *Listeria ivanovii* insan ve hayvanlarda hastalık oluşturan patojen türlerdir (Erol 2007). Listeria türleri toprak, sebze, lağım suyu, nehirler ve tuz havzaları gibi çok çeşitli kaynaklarda mevcuttur (Ryser ve Marth 1991). *L. monocytogenes* ile kontamine olan ve usulüne uygun yapılmayan silaj *L. monocytogenes* için önemli bir rezervuar olarak rapor edilmiştir (Jones ve Seeliger 1991).

Hayvansal gıda ürünleri çeşitli faktörler nedeniyle farklı sayı ve türde mikroorganizma içerebilmektedir. Kanatlı etlerindeki kontaminasyon ise çoğunlukla kesim sırasında meydana gelmektedir. Bu sorun da insanlarda kanatlı etlerinden kaynaklanan infeksiyonların görülmesine ve ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Listeria infeksiyonlarında tüketime hazır gıdalar, pastörize edilmemiş süt ve ürünleri, çiğ et ve et ürünleri ile salatalar başlıca risk grubu gıdalardır (Schlech 2000). *L. monocytogenes* düşük pH değeri, buzdolabı sıcaklığı ve yüksek tuz konsantrasyonu gibi olumsuz koşullarda üreyebilmektedir. Bu durum halk sağlığı açısından önem arz etmektedir (Swaminathan ve ark 2007). Hayvansal gıdalar içerisinde; çiğ ve pastörize süt ile peynir, dondurma, krema gibi süt ürünleri; kıyma ve diğer kırmızı et ürünleri, tavuk eti; balık ve diğer su ürünleri *L. monocytogenes* ve diğer Listeria türleri ile kontamine olabilmektedir (Erol 2007). Uygun hijyenik şartlar sağlanamadığında kanatlı etleri *L. monocytogenes* gibi enterik bakterilerle yüksek düzeyde kontamine olabilmektedir (Maretha ve ark 1996).

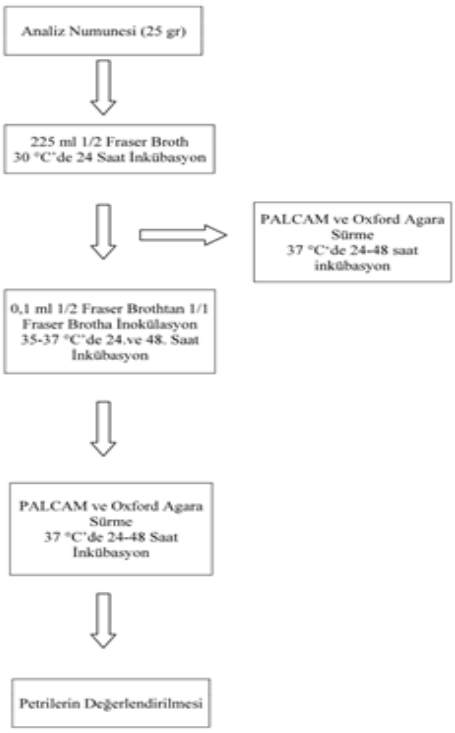
Bu çalışmanın amacı; Erzurum bölgesinde tüketime sunulan tavuk etlerinden Listeria etkeninin izolasyonu ve identifikasyonu yapılarak Listeria türlerinin varlığını ve yaygınlığını tespit ederek bölgedeki halk sağlığı açısından listeriozisin risk seviyesinin ortaya konulmasıdır.

Gereç ve Yöntem

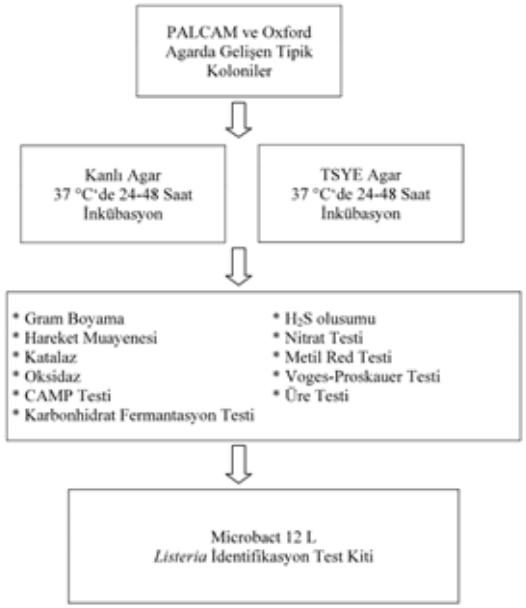
Bu çalışmada; Erzurum bölgesinde tüketime sunulan 100 adet tavuk but eti piyasadan temin edilerek analiz numunesi olarak kullanıldı. Soğuk hava depolarında (-18°C) muhafaza edilen tavuk etleri, içerisinde buz aküleri bulunan termoslu kaplarla alınarak aseptik koşullarda laboratuvara getirildi. Tavuk eti ambalajı açılmadan çözündürme dolabına (+4°C) alındı ve çözünmeye bırakıldı. Analizde besiyerleri olarak; Fraser Listeria Selective Enrichment Broth Base (Merck 1.10398), Fraser Listeria Supplement (Merck 1.10399, PALCAM Agar (Merck 1.11755), PALCAM Agar Selective Supplement (Merck 1.12122), Oxford Listeria Selective Agar (Merck 1.07004), Oxford Listeria Selective Supplement(Merck 1.07006) kullanıldı. Analizler TS EN ISO 11290-1 Gıda ve Yem Maddelerinin Mikrobiyolojisi-*Listeria monocytogenes*'in Aranması ve Sayımı Metoduna (TS EN ISO 2017) uygun olacak şekilde yapılmıştır. Bu yöntemde Listeria 'ların ayrı sıvı besiyerleri içerisinde ön ve selektif nitelikte esas zenginleştirmeleri yapıldı. Ön zenginleştirmede; besiyerinde bulunan inhibitör maddelerin olumsuz etkisini azaltmak için, yarı konsantre Fraser Broth (bazal Fraser Broth ve yarı konsantre supplement), esas zenginleştirmede konsantre Fraser Broth kullanıldı. Listeria türlerinin izolasyon metodu Şekil 1'de verilmiştir (Bektaş ve ark. 2006, TS EN ISO, 2017). Yapılan ekimler ve inkübasyon süreleri sonunda PALCAM Agarda 1,5-2 mm çapında zeytin yeşili-gri renkli, bazen siyah merkezli ancak her zaman siyah zonlu, Oxford Agarda ise 2-3 mm çapında siyahımsı yeşil kahverengi, siyah zonlu çökük merkezli koloniler Listeria spp. şüpheli olarak değerlendirildi ve identifikasyon çalışmasına dahil edildi (Halkman 2005).

Listeria spp. Şüpheli Örneklerin İdentifikasyonu

Referans Suşlar: İzolasyon ve identifikasyon çalışmalarında Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'ndan temin edilen *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus* ve *Rhodococcus equi* suşlarından yararlanıldı.



Şekil 1. *Listeria* türlerinin izolasyon metodu



Şekil 2. *Listeria* türlerinin identifikasyon

İdentifikasyon: İdentifikasyonda besiyerleri olarak; Tryptone Soya Yeast Extract [TSYE Agar-üç ayrı besiyeri ve katkının karışımından: 30 gr/l CASO Broth (Merck 1.05459), 6 gr/l maya ekstraktı (Yeast Extract Merck 1.03753) ve 15 gr/l agar (Merck 1.01613) damıtık su içinde eritilerek yapıldı], Triple Sugar Iron Agar (Merck 1.03915), Üre Broth (Merck 1.08483), Phenol Red Base (Merck 1.10987), MR-VP Broth (Merck 1.05712) kullanıldı. İdentifikasyon çalışmaları kapsamında şüpheli Listeria spp. kolonileri TSYE agar ile Kanlı Agara tek koloni düşecek şekilde ekimleri yapıldı ve petriler 24-48 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda Kanlı Agarda ve TSYE Agarda üreyen kolonilere Gram boyama, hareket muayenesi, katalaz, oksidaz, CAMP, karbonhidrat fermentasyon, H2S oluşumu, indol, nitrat, Metil Red, Voges-Proskauer, üre testleri uygulanarak kolonilerin identifikasyonu yapıldı. Kanlı Agar'da üreyen şüpheli Listeria spp. kolonileri ayrıca Microbact 12 L Listeria identifikasyon test kiti ile de değerlendirildi. Listeria türlerinin identifikasyon metodu Şekil 2'de verilmiştir.

Koloni Morfolojisi: Kanlı agarda nonhemolitik veya dar bir hemoliz oluşturan S-formlu gri-beyaz koloniler şüpheli Listeria spp. olarak değerlendirildi. TSYE Agarda 1-2 mm çapında konveks, renkli ya da opak düzgün kenarlı koloniler Listeria spp. olarak değerlendirildi. Hemoliz Testi: Kanlı Agarda koloni etrafında şeffaf renkte zon oluşumu β-Hemoliz olarak değerlendirildi. β-Hemoliz patojen türler olan *L. monocytogenes* ve *L. ivanovii* için tipik bir tür tayin özelliğidir. Gram Boyama: Kanlı Agarda üreyen şüpheli Listeria spp. kolonilerinden alınan tek koloni Gram boyama yapılarak mavi-mor renkteki Gram (+) küçük çomaklar pozitif olarak değerlendirildi.

Hareket Testi: Şüpheli Listeria spp. kolonileri TSYE ekildikten sonra 37°C'de 18-24 saatlik inkübasyon sonrası üreyen koloniden örnek lamele alınarak üzerine çukur lam kapatılıp mikroskopta tipik "takla atma hareketi" (tumbling motility) bulunup bulunmadığı incelendi. Yine TSYE'de üreyen koloniden iğne uçlu öze ile SIM Mediuma dik daldırma yöntemi ile ekim yapıldı. Ekim hattından çevreye doğru homojen bir yayılma, opaklaşma ve yüzeyin altında "ters çam agacı veya semsiye" tarzı üremenin olup olmadığı incelendi.

Katalaz Testi: Lam üzerine bir damla %3'lük H2O2 çözeltisinden konularak şüpheli Listeria spp. kolonisi öze ile alınarak lam üzerine değdirildi ve homojenize olması beklendi. Gaz kabarcıklarının oluşumu pozitif olarak değerlendirildi. Oksidaz Testi: Oksidaz testi için Bactident Oxidase (Merck 1.13300) test ayıracı kullanıldı. Test için koloni 1 ml saf suda çözdürüldükten sonra test şeritinin reaksiyon bölmesine kondu ve 60 saniye içinde mavi-menekşe renk pozitif olarak değerlendirildi.

Hidrojen Sülfür (H2S) Oluşumu: Kanlı Agarda gelişen şüpheli Listeria spp. kolonisiniden Tryptone Soya Yeast Extract Agara yapılan ekimden oluşan koloniden bir öze dolusu alınarak Triple Sugar Iron Agar besiyerine ekildi ve 37°C'de 24 saat inkubasyona bırakıldı. Gaz ve H2S oluşumu pozitif olarak değerlendirildi. Üre Testi: Şüpheli Listeria spp. kolonisinin TSYE kültüründen 1 ml alınarak üre brothta ilave edildi ve 37°C de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Pembe renk oluşumu

pozitif olarak değerlendirildi. Metil Red Testi: 18 saatlik aktif kültürden, 5 ml'lik MR-VP Broth besiyerine öze ile aşılama yapıldı ve 37°C'de 96 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda besiyerinden alınan bir miktar örnek üzerinde metil red damlatıldı. Rengin kırmızıya dönmesi pozitif olarak değerlendirildi. İndol Testi: İndol testi yapılacak olan izolat ilk önce 5 ml Tryptone Water Broth (Merck 1.10.859) besiyerine inoküle edildi ve 37°C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Daha sonra besiyerinin üzerine Kovacks İndol çözeltisi ilave edildi ve tüp elle karıştırıldı. En geç iki dakika içinde tüpün üzerinde vişneçürüğü renkli bir halka görülmesi pozitif olarak değerlendirildi. Voges Proskauer (VP) Testi: Hazırlanmış olan 5 ml'lik MR-VP Broth besiyerine 18 saatlik aktif kültürden öze ile aşılama yapıldı ve 37°C'de 96 saat inkübe edildi. 48. saatte kültürden alınan 1 ml'lik örnek test tüpüne aktarıldı. Üzerine 0.6 ml α-naphtol eklendi ve karıştırıldı. Daha sonra 0.2 ml %40'lık KOH çözeltisinden ilave edildi ve 4 saat sonra vişne çürüğü renk pozitif olarak değerlendirildi.

CAMP Testi: *Staphylococcus aureus* ve *Rhodococcus equi* suşları %5'lik koyun kanlı agar besiyerlerinin karşılıklı uçlarına paralel çizim şeklinde ekimleri yapıldı. Şüpheli kolonilerden bu ekim çizgilerine horizantal olarak ekim yapıldıktan sonra 37°C'de 24 saat inkube edildi. *L. monocytogenes* ve *L. seeligeri* için *S. aureus* ile "ok başı" şeklinde sinerjistik hemoliz alanı oluşumu pozitif, *Rhodococcus equi* ile ise negatif olarak değerlendirildi.

Karbonhidrat Fermentasyon Testleri: Fenol red indikatörünün peptonlu su ile hazırlanan solüsyonu ile glukoz, laktoz, mannitol, ramnoz, ksiloz, salisinin %1'lik çözeltileri hazırlandı. Şüpheli Listeria spp. kolonisinin TSYE kültüründen bu çözeltilere 0.1 ml ilave edildikten sonra 37°C'de 1-10 gün inkube edildi. İnkübasyon sonucu sarı renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi.

Microbact 12 L Listeria İdentifikasyon Test Kiti :Kanlı Agar'da üreyen şüpheli Listeria spp. kolonilere Microbact 12 L Listeria identifikasyon test sistemi yapıldı. Üreyen şüpheli kolonilerden yavaş test için (18-24 saat) tek bir koloni alındı ve sulandırma sıvısı ile karıştırıldı. Test stripi özel taşıma tepsisine kondu ve stripin üzerindeki koruyucu film sıyrılarak steril bir pipet ile her kuyucuğa hazırlanmış olan süspansiyondan 100 µl ve 12 nolu kuyucuğa 1 damla hemoliz reaktifi ilave edildi. Stripler, 24 saat 35±1°C'de inbübe edildi. İnkübasyon sonucu kuyucuklarda oluşan renk değişimleri gözle okunarak kayıt formuna işlendikten sonra bilgisayar identifikasyon programına veri tablosundan elde edilen kod sayı girildi ve programdan izolatın hangi Listeria türüne ait olduğu okunarak sonuçlar kayıt edildi (Oxoid, 2005).

Bulgular

Bu çalışmada; Erzurum bölgesinde tüketime sunulan toplam 100 adet tavuk eti numunesinden 64 adedinde Listeria spp. saptandı. İdentifikasyon çalışma sonuçlarına göre izole edilen Listeria'ların 16 (%25)'sının *L. monocytogenes,* 26 (%40.62)'sının *L. innocua,* 12 (%18.75)'sinin *L. grayi,* 5 (%7.81)'inin *L. murrayi* ve 5 (%7.81)'inin *L.welshimeri* olduğu tespit edildi. Tavuk eti örneklerinden yapılan izolasyonda tespit edilen şüpheli Listeria spp. kolonilerinin türlere göre dağılımı Tablo 1'de, tavuk eti örneklerinden identifiye edilen izolatların morfolojik ve biyokimyasal test sonuçları Tablo 2'de verilmiştir.

Kanlı Agar'da üreyen 64 adet şüpheli Listeria spp. kolonilere uygulanan Microbact 12 L Listeria identifikasyon test kiti sonucunda 25 adet Listeria türü tespit edildi. Bu Listeria türlerinin 7 (%28)'sinin L .monocytogenes, 10 (%40)'unun L. innocua, 6 (%24)'sının L. grayi, 1 (%4)'inin L. murrayi ve 1 (%4)'inin L. welshimeri olduğu tespit edildi. Microbact 12 L Listeria identifikasyon sistemi tür tayini sonuçları Tablo 3'de ve Microbact 12 L Listeria identifikasyon test kiti reaksiyon sonuçları Tablo 4'de verilmiştir.

Tartışma

Bu çalışmada; 100 adet tavuk tavuk eti numunesinde yapılan izolasyon çalışması sonunda 64 adet örnekte Listeria spp. şüpheli koloni olduğu gözlenmiştir. İdentifiye edilen Listeria şüpheli örneklerin 16 (%25)'sının *L.monocytogenes,* 26 (%40.62)'sının *L.innocua*, 12 (%18.75)'sinin *L grayi*, 5 (%7.81)'inin *L.murrayi* ve 5 (%7.81)'inin *L.welshimeri* olduğu tespit edildi. Türkiye'de tavuk eti ve tavuk ürünlerinde Listeria izolasyonu ve identifikasyonuna ait çalışmalar mevcuttur (Güven ve Patır 1998, Özmen 2006, Sancak ve ark 2007, Ayaz 2008,).
Güven ve ark. (1998) Elazığ ilinde yapmış oldukları çalışma-

Tablo 1. Şüpheli *Listeria* spp. kolonilerinin türlere göre dağılımı

Tespit Edilen *Listeria* Türleri	*Listeria* spp.	*L. monocytogenes*	*L. innocua*	*L.grayi*	*L.murrayi*	*L.welshimeri*
Tespit Edilen Sayılar ve Yüzdeler (n=100)	64 (%64)	16 (%25)	26 (%40.62)	12 (%18.75)	5 (%7.81)	5 (%7.81)

Tablo 2. İdentifiye edilen izolatların morfolojik ve biyokimyasal test sonuçları-1

Numune no	1	2	3	4	7	9	14	16	18	19	21	23	24	27	28	29	30	31	33	34	35	38
PALCAM Agarda Üreme 1/2 F 24s / 1/1 F 48s	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Oxford Agarda Üreme 1/2 F 24s / 1/1 F 48s	+/+	–/+	+/+	+/+	+/+	+/+	–/+	–/+	–/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	–/+	+/+	–/+	+/+	+/+	+/+	+/+	–/+
Gram boyama	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Morfolojisi	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ
Spor	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidaz	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Hareket Testi (25°C)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Metil Red	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrat	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–
H_2S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glikoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Laktoz	ND	ND	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	+	ND	ND	+	ND	ND	+	ND	+	ND
Ksiloz	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Ramnoz	+	–	ND	ND	+	+	ND	ND	–	+	ND	ND	ND	+	–	ND	–	ND	ND	+	ND	–
Üre	+	–	–	–	+	+	–	–	–	+	–	–	–	+	–	–	–	–	–	+	–	–
CAMP (*Sa*/*Re*)	+/–	–/–	–/–	–/–	+/–	+/–	–/–	–/–	–/–	+/–	–/–	–/–	–/–	+/–	–/–	–/–	–/–	–/–	–/–	+/–	–/–	–/–
Beta Hemoliz	+	–	–	–	+	+	–	–	–	+	–	–	–	+	–	–	–	–	–	+	–	–
Mannitol	–	+	–	–	–	–	–	–	+	–	–	+	–	–	+	–	+	+	–	–	–	+
İndol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tanımlanan *Listeria* Türü	*L. monocytogenes*	*L.grayi*	*L.innocua*	*L.innocua*	*L. monocytogenes*	*L. monocytogenes*	*L.welshimeri*	*L.welshimeri*	*L.grayi*	*L. monocytogenes*	*L.innocua*	*L.murrayi*	*L.innocua*	*L. monocytogenes*	*L.grayi*	*L.innocua*	*L.grayi*	*L.murrayi*	*L.innocua*	*L. monocytogenes*	*L.innocua*	*L.grayi*

Tablo 2. İdentifiye edilen izolatların morfolojik ve biyokimyasal test sonuçları-2 (devamı)

Numune no:	39	43	44	45	46	50	51	52	54	55	58	60	61	63	64	65	67	68	69	72	73
PALCAM Agarda Üreme 1/2 F 24s / 1/1 F 48s	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Oxford Agarda Üreme 1/2 F 24s / 1/1 F 48s	+/+	+/+	+/+	+/+	–/+	+/+	+/+	+/+	–/+	+/+	+/+	–/+	+/+	+/+	+/+	–/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Gram boyama	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Morfolojisi	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ
Spor	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidaz	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Hareket Testi (25C°)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Metil Red	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrat	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–
H_2S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glikoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Laktoz	ND	+	+	ND	ND	ND	+	+	ND	ND	+	ND	+	ND	+	ND	ND	ND	ND	+	+
Ksiloz	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Ramnoz	+	ND	ND	+	–	+	ND	ND	–	ND	ND	–	ND	+	ND	–	ND	+	ND	ND	ND
Üre	+	–	–	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	+	–	–	–
CAMP (*Sa*/*Re*)	+/–	–/–	–/–	+/–	–/–	+/–	–/–	–/–	–/–	–/–	–/–	–/–	–/–	+/–	–/–	–/–	–/–	+/–	–/–	–/–	–/–
Beta Hemoliz	+	–	–	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	+	–	–	–
Mannitol	–	–	–	–	+	–	–	–	+	+	–	+	–	–	–	+	+	–	–	–	–
İndol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tanımlanan *Listeria* Türü	*L. monocytogenes*	*L.innocua*	*L.innocua*	*L. monocytogenes*	*L.grayi*	*L. monocytogenes*	*L.innocua*	*L.innocua*	*L.grayi*	*L.murrayi*	*L.innocua*	*L.grayi*	*L.innocua*	*L. monocytogenes*	*L.innocua*	*L.grayi*	*L.murrayi*	*L. monocytogenes*	*L.welshimeri*	*L.innocua*	*L.innocua*

Tablo 2. İdentifiye edilen izolatların morfolojik ve biyokimyasal test sonuçları-3 (devamı)

Numune no:	74	75	77	78	80	81	82	83	84	85	86	87	90	91	92	93	95	96	98	99	100
PALCAM Agarda Üreme 1/2 F 24s / 1/1 F 48s	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/+
Oxford Agarda Üreme 1/2 F 24s / 1/1 F 48s	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/+–	/++	+/+–	/++	+/++	+/++	+/++	+/+–	/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/+
Gram boyama	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Morfolojisi	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ	KÇ
Spor	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidaz	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Hareket Testi (25C°)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Metil Red	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrat	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–
H_2S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glikoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Laktoz	ND	ND	ND	+	+	+	ND	+	ND	ND	+	ND	ND	ND	+	+	ND	+	ND	+	+
Ksiloz	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Ramnoz	ND	+	+	ND	ND	ND	–	ND	–	ND	ND	+	+	–	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND
Üre	–	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–	+	–	–	–	–
CAMP (*Sa*/*Re*)	–/–	+/–	+/–	–/–	–/–	–/–	–/–	–/–	–/–	–/–	–/–	+/–	+/–	–/–	–/–	–/–	+/–	–/–	–/–	–/–	–/–
Beta Hemoliz	–	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–	+	–	–	–	–
Mannitol	–	–	–	–	–	–	+	–	+	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–
İndol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tanımlanan *Listeria* Türü	*L.welshimeri*	*L. monocytogenes*	*L. monocytogenes*	*L.innocua*	*L.innocua*	*L.innocua*	*L.grayi*	*L.innocua*	*L.grayi*	*L.welshimeri*	*L.innocua*	*L. monocytogenes*	*L. monocytogenes*	*L.grayi*	*L.innocua*	*L.innocua*	*L. monocytogenes*	*L.innocua*	*L.murrayi*	*L.innocua*	*L.innocua*

ND: Not Determinete (-): Negatif Reaksiyon (+): Pozitif Reaksiyon;
KÇ: Küçük Çomak; Sa: *Staphylococcus aureus* Re: *Rhodococcus equi*

Tablo 3. Microbact 12 *L Listeria* identifikasyon test kitine göre tür dağılımı

Tespit Edilen Listeria Türleri	*Listeria* spp.	*L. monocytogenes*	*L. innocua*	*L.grayi*	*L.murrayi*	*L.welshimeri*
Tespit Edilen Sayılar ve Yüzdeler (n=100)	25	7 (%28)	10 (%40)	6 (%24)	1 (%4)	1 (%4)

Tablo 4. Microlab 12 1 Listeria identifikasyon test kiti reaksiyon sonuçları

Kuyucuk no/Substrat adı/Pozitif renk													
Örnek Numarası	1.Eskulin-si	2.Mannitol-s	3.Ksiloz-s	4.Arabitol-s	5.Riboz-s	6.Ramnoz-s	7.Trelaloz-s	8.Tagatoz-s	9.Glukoz-1-fosfat-s	10.Metil-D-Glukoz-s	11.Metil-D-Mannoz-s	12.Hemoliz-kh	İdentifiye edilen tür
1	Si	M	M	M	S	S	M	S	S	S	S	Kh	*L. monocytogenes*
3	Si	M	M	M	M	S	S	M	M	S	S	K	*L. innocua*
18	Si	M	M	M	S	M	S	S	S	S	S	K	*L.grayi*
19	Si	S	M	M	S	S	M	S	S	S	S	Kh	*L. monocytogenes*
21	Si	M	M	M	M	S	S	M	M	S	S	K	*L. innocua*
23	Si	M	M	M	M	S	S	M	M	S	S	K	*L. innocua*
24	Si	M	M	M	M	S	S	M	M	S	S	K	*L. innocua*
26	Si	M	M	M	M	S	S	M	M	S	S	K	*L. innocua*
27	Si	M	M	M	S	S	M	S	S	S	S	Kh	*L. monocytogenes*
30	Si	S	M	M	S	M	S	S	S	S	S	K	*L.grayi*
34	Si	M	M	M	S	S	M	S	S	S	S	Kh	*L. monocytogenes*
38	Si	S	M	M	S	M	S	S	S	S	S	K	*L.grayi*
45	Si	M	M	M	S	S	M	S	S	S	S	Kh	*L. monocytogenes*
46	Si	S	M	M	S	M	S	S	S	S	S	K	*L.grayi*
52	Si	M	M	M	M	S	S	M	M	S	S	K	*L. innocua*
55	Si	M	S	M	M	M	M	M	M	S	S	Kh	*L.murayi*
58	Si	M	M	M	M	S	S	M	M	S	S	K	*L. innocua*
60	Si	S	M	M	S	M	S	S	S	S	S	K	*L.grayi*
63	Si	M	M	M	S	S	M	S	S	S	S	Kh	*L. monocytogenes*
67	Si	M	M	M	M	S	S	M	M	S	S	K	*L. innocua*
69	Si	M	S	S	M	S	S	S	M	S	S	K	*L.welshimeri*
78	Si	M	M	M	M	S	S	M	M	S	S	K	*L. innocua*
83	Si	M	M	M	M	S	S	M	M	S	S	K	*L. innocua*
91	Si	S	M	M	S	M	S	S	S	S	S	K	*L.grayi*
95	Si	M	M	M	S	S	M	S	S	S	S	Kh	*L. monocytogenes*

Si: Siyah M:Mor S:Sarı
Kh: Kahverengi (ß-hemoliz pozitif sonuç) K: Çöken kırmızı hücre (ß-hemoliz negatif sonuç)

larında tavuk eti örneklerinin %38.8'inde *L.monocytogenes,* %50'sinde *L. innocua* ve %60'ında Listeria türleri tespit etmişlerdir. 10 gün sonraki incelemede ise örneklerin %15'inde *L.monocytogenes*, %33.8'inde *L. innocua* olmak üzere toplam %37.5'inde Listeria türleri tespit ettiklerini rapor etmişlerdir. Bu çalışmada daha az Listeria etkeninin izole edilmiş olması; kullanılan metot ve çevre şartlarına ait farklılıklardan kaynaklanmış olabileceği değerlendirilmiştir. Özmen (2006) Gemlik ilçesinde yaptığı çalışmada 100 adet tavuk eti örneklerinden 76 (%76) adet Listeria spp. izole ettiğini bildirmiştir. İdentifiye ettiği Listeria kolonilerinin 24 (%31,6)'ünün *L. monocytogenes*, 43 (%56,6)'ünün *L. innocua,* 4 (%5,3)'ünün *L. murrayi*, 3 (%3,9)'ünün *L. grayi* ve 2 (%2,6)'sinin *L. welshimeri* olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlarla kıyaslandığında Listeria etkeninin daha fazla tespit edildiği gözlenmektedir. Kullanılan analiz metodunun ve çevre şartlarının farklı olmasından dolayı böylesi bir farklılığın ortaya çıkabileceği değerlendirilmiştir. Özmen (2006) çalışmasında şüpheli Listeria kolonilerinin identifikasyonunda Microbact 12 L Listeria identifikasyon test sistemini de kullanmıştır. Tavuk karkaslarından izole ettiği 76 adet Listeria şüpheli koloniden test sonrası 24 adedini Listeria türü olarak rapor etmiştir. Bu Listeria türlerinin 13'ünün *L. innocua,* 8'inin *L. monocytogenes,* 1'inin *L. murrayi*, 1'inin *L. welshime-*

ri, 1'inin *L. grayi* olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada Listeria şüpheli kolonilerde identifikasyon amaçlı kullanılan hızlı test kit sonuçları Özmen (2006)'in bulgularıyla benzerlik göstermiştir.

Sancak ve ark (2007) Van ilinde tüketime sunulan et ve et ürünlerinde yapmış oldukları Listeria türlerinin izolasyon ve identifikasyon çalışmasında inceledikleri 120 adet numuneden 30 (%25)'unda Listeria izole etmişler ve yaptıkları identifikasyon çalışması sonucunda bunlardan 11 (%9.2)'inin *L. monocytogenes,* 14 (%11.7)'ünün *L. innocua*, 3 (%2.5)'ünün *L. welshimeri,* 1 (%0.8)'inin *L.ivanovii*, 1 (%0.8)'inin *L. innocua* ve *L. seeligeri* olduğunu bildirmişlerdir. Sonuçlar arasındaki farklılığın sebebi Sancak ve ark'nın (2007) tavuk eti dışında geniş bir et ve et ürünlerini numune olarak alması ve aynı zamanda ısıl işlem görmüş et ürünlerinden de numune kullanmış olmalarıdır. Ayaz (2008) ise hindi eti üzerine yapmış olduğu çalışmada; Ankara'da tüketime sunulan 180 hindi kıyma örneğini analiz etmiş ve 32 (%17,8)'sinin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu bildirmiştir.

Dünya genelinde de tavuk eti ve tavuk ürünlerinde Listeria izolasyonu ve identifikasyonuna ait çalışmalar yapılmıştır (Pini ve Gilbert 1988, Rorvik ve Yndestad 1991, Miettinen ve ark 2001, Antunes ve ark 2002, Praakle-Amin ve ark 2006). Pini ve ark (1988) Londra'da yaptıkları çalışmada 100 adet çiğ tavuk örneğinden 60 (%60)'ında Listeria spp. izole ettiklerini ve bu örneklerden %28'inin *L. monocytogenes* olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada toplam örneklerin %64'ünde Listeria spp., identifikasyon sonucunda ise %25'inde *L. monocyogenes* tespit edilmiştir. Her iki çalışma arasında tespit edilen Listeria etkenleri miktarlarında benzerlik olduğu gözlenmiştir. Rorvik ve ark (1991) Norveç'te yaptıkları çalışmada kanatlı eti örneklerinden %61'inde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir. Miettinen ve ark (2001) 61 adet çiğ tavuk örneğinden 38 (%62)'inde *L. monocytogenes* tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Antunes ve ark. (2002) kanatlı karkas örneklerinden %84'ünde Listeria spp. tespit etmiş ve identifikasyon çalışmalarından sonra ise bunlardan %73'ünün *L. monocytogenes* olduğunu bildirmiştir. Praakle ve ark (2006) tavuk ayaklarında yaptıkları Listeria izolasyonunda toplam 240 adet örnekten 169 (%70)'unda *Listeria monocytogenes* olduğunu rapor etmişlerdir.

Öneriler

Sonuç olarak; yapılan çalışmada tavuk eti örenkelerinden izole edilen Listeria spp. oranının oldukça yüksek olduğu ve halk sağlığı açısından risk oluşturabileceği tespit edilmiştir. Bu durumun; kesimhanelerin hijyen kalitesinin düşük oluşuna, üretim teknolojisindeki eksikliklere, nakliye sırasındaki kontaminasyona ve Listeria spp.'nin psikrofilik özelliğinden dolayı soğuk ortamlarda ve olumsuz koşullarda dahi üreme yeteneğinin bulunmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Listeria insidansının azaltılması ve çiftlikten sofraya sağlıklı gıda tüketiminin sağlanabilmesi için tavuk üretim ve kesimhanelerinde gıda güvenliği çalışma sistematiğinin eksiksiz olarak uygulanması gereklidir.

Teşekkür

Bu makale 1. yazarın Yüksek Lisans tezinin bir bölümünden özetlenerek hazırlanmış olup 6. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresinde poster olarak sunulmuş, kongre kitabına özet metin olarak basılmıştır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Kaynaklar

Antunes P, Reu C, Sousa JC, Pestana N, et al. 2002. Incidence and susceptibility to antimicrobial agents of Listeria spp. and *Listeria monocytogenes* isolated from poultry carcasses in porto, Portugal. J Food Prot, 65 (12),1888–1893.

Ayaz ND, 2008. Hindi kıymalarında *Listeria monocytogenes*'in immuno manyetik separasyon ve PCR ile tanısı ve antibiyotik duyarlılıklarının saptanması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bil Enst, Ankara.

Bektaş M, Bozkurt EN, Bozkurt H, Alişarlı M, et al. 2006. Et ve Et Ürünlerinde *Listeria monocytogenes*'in İzolasyonu. Van Tıp Derg, 13 (2), 36-41.

Erol İ. (2007). Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi, Pozitif Matbaacılık, Ankara. 126-134,

Farber JM, Peterkin PI, 1991. *Listeria monocytogenes*, a foodborne pathogen. Microbiol Rev, 55, 476-511.

Güven A, Patır B, 1998. Elazığ ilinde tüketime sunulan et ve bazı et ürünlerinde Listeria türlerinin araştırılması. Turk J Vet Anim Sci, 22, 205-212.

Halkman AK, 2005. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Başak Matbaacılık, Ankara.

Jones D, Seeliger HPR, 1991. The Genus Listeria. The Procaryotes, Vol II, Balows A, Trüper HG, Dworkin M, Harder W, Schleifer KH (eds) 2nd ed Springer Verlag, 598-1616.

Maretha O, Veary CM, Cloete TE, Von Holy A, 1996. Microbial status of chicken carcasses from a non-automated poultry processing plant. J Basic Microbiol, 36, 41-49.

Miettinen MK, Palmu L, Bjorkroth KJ, Korkeala H., 2001. Prevalence of Listeria monocytogenes in broilers at the abattoir, processing plant, and retail level. J Food Prot, 64,

994–999.

Oxoid 2005. Listeria Rapid Test Incorporation Clearview. FT0401M. Oxoid.

Özmen G, Kılıç H, 2006. Gemlik garnizonunda tüketime sunulan tavuk etlerinde Listeria spp. izolasyonu. Sağlık Bil Derg, 15 (3), 194-197.

Pini PN, Gilbert RJ, 1988. The occurrence in the U.K. of Listeria species in raw chickens and soft cheeses. Int J Food Microbiol, 6(4), 317–326.

Praakle-Amin K, Hanninen ML, Korkeala H, 2006. Prevalence and genetic characterization of *Listeria monocytogenes* in retail broiler meat in Estonia. J Food Protect, 69, 436–440.

Rorvik LM, Yndestad M, 1991. *Listeria monocytogenes* in foods in Norway. Int J Food Microbiol,13, 97–104.

Ryser ET, Marth EH, 1991. Listeria. Listeriosis and food safety. Mercel Dekker, New York.

Sancak YC, İşleyici Ö, Sağun E, 2007. Van ilinde tüketime sunulan bazı et ürünlerinde Listeria türlerinin varlığı. YYÜ Vet Fak Derg, 18, 93-99.

Schlech WF, III. 2000. Epidemiology and clinical manifestations of Listeria monocytogenes infections. In: Gram Positive Pathogens. Ed, Fischetti VA, American Society for Microbiology Press, Washington DC, 473-479.

Swaminathan B, Cabanes D, Zhang W, Cossart P, 2007. Listeria monocytogenes. In: Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. Ed, Doyle MP, Beuchat LR, 3rd Ed. ASM Pres, Washington, 457-491.

TS EN ISO 11290-1, 2017. International Organization for Standardization (ISO). Microbiology of food and animal feeding stuffs: Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes. ISO Copyright Office, Switzerland.

TUİK.gov.tr, 2019. Temel İstatistikler Erişim tarihi : 15.4.2019, Erişim adresi : http://tuik.gov.tr/UstMenudo?metod=temelist.

Ustuner B, Gunay U, Nur Z, Üstüner H, 2007. Effects of long and short-term progestagen treatments combined with PMSG on oestrus syncronization and fertility in Awassi ewes during the breeding season. Acta Vet Brno,76, 391-97.

von Krueger X, Heuwieser W, 2010. Effect of flunixin meglumine and carprofen on pregnancy rates in dairy cattle. J of Dairy Sci, 93, 5140-46.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Mustafa ATASEVER
Tasarım: Emre KAYA,
Denetleme/Danışmanlık: Mustafa ATASEVER
Veri Toplama ve/veya İşleme: Emre KAYA
Analiz ve/veya Yorum: Emre KAYA, Mustafa ATASEVER
Kaynak Taraması: Emre KAYA
Makalenin Yazımı: Emre KAYA
Eleştirel İnceleme: Mustafa ATASEVER